

14/9/1

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2004 Thomson Derwent. All rts. reserv.

002493603

WPI Acc No: 1980-11618C/198007

Coenzyme-Q 10 prodn. - by culturing a Geotrichum microorganism pref.

ML-2

Patent Assignee: KANEGAFUCHI CHEM KK (KANF)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 55000027	A	19800105				198007 B

Priority Applications (No Type Date): JP 7862886 A 19780525

Abstract (Basic): JP 55000027 A

Coenzyme Q10 is produced by culturing a Q10-producing
Geotrichum

organism and recovering the prod. from the fungal cells.

The microorganisms are pref. Geotrichum sp. ML-2 (FERM P 4493).

Prods. are useful in the treatment e.g. of hypertension, pyorrhea
alveolaris or cardiac insufficiency.

Title Terms: COENZYME-Q; PRODUCE; CULTURE; GEOTRICHUM; MICROORGANISM;
PREFER; ML

Derwent Class: B05; D16

International Patent Class (Additional): C12P-007/66; C12R-001/38

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B04-B02C1; B12-F01; B12-F05; B12-L03; D05-C03

Chemical Fragment Codes (M1):

01 V800 G100 M531 L951 H541 H542 H711 H722 H723 M240 M232 M233 M331
M333 N130 M510 M520 M540 P521 P522 P526 M720 P910 M414 M902

Chemical Fragment Codes (M2):

02 K0 H5 H7 M282 M210 M211 M226 M231 M232 M240 M270 M311 M316 M320
G100

M531 L951 H541 H542 H711 H722 H723 N130 M510 M520 M540 P521 P522
P526 M720 P910 M414 M902

?

⑫ 公開特許公報 (A)

昭55—27

⑤ Int. Cl.³
C 12 P 7/66
C 12 R 1/38

識別記号

庁内整理番号
6760—4B
6760—4B

⑬ 公開 昭和55年(1980)1月5日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 2 頁)

⑭ 微生物による補酵素 Q₁₀ の製造法

高砂市荒井町千鳥二丁目18の3

⑯ 特 願 昭53—62886

⑯ 発 明 者 渡辺清

明石市松ヶ丘5丁目15の41

⑰ 出 願 昭53(1978)5月25日

⑰ 出 願 人 鐘淵化学工業株式会社

大阪市北区中之島三丁目2番4号

⑱ 発 明 者 川原田肇

加古川市平岡町新在家2183の4

⑱ 発 明 者 籠谷啓一

⑱ 代 理 人 弁理士 浅野真一

明 細 書

1. 発明の名称

微生物による補酵素 Q₁₀ の製造法

2. 特許請求の範囲

1. ゲオトリカム属に属し、かつ菌体内に補酵素 Q₁₀ の蓄積生産能を有する微生物を栄養培地で培養し、生成された菌体から補酵素 Q₁₀ を採取することを特徴とする補酵素 Q₁₀ の製造法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、微生物による補酵素 Q₁₀ の製造法に関するものである。

補酵素 Q は、生物の末端電子伝達系に関与する生理的に重要なキノン誘導体で、2,3-ジメトキシ-5-メチル1,4-ベンゾキノンの6位にイソプレノイド側鎖を有し、側鎖のイソプレノイド基の数により補酵素 Q₆ ~ 補酵素 Q₁₀ の各種の同族体がある。人間等の高等動物は殆んど補酵素 Q₁₀ を有することから、医薬として

最も価値の高いものは補酵素 Q₁₀ であるとされており、補酵素 Q₁₀ は既にうつ血性心不全の治療薬として生産販売され、更に将来高血圧、歯そうのうろう等の治療薬としての用途も期待されている。

現在行なわれている補酵素 Q₁₀ の工業的生産は、タバコの葉等の植物から補酵素 Q₁₀ の創駆体を抽出し、抽出物から化学的合成法によつて補酵素 Q₁₀ を製造する半合成法によるもので、この方法は資源的な制約があること、工程が複雑であること、異性体の生成の問題がある等の欠点を有するため、これらの問題を一挙に解決し得る、より優れた方法として微生物による生産の開発が望まれてきた。

補酵素 Q₁₀ を含有する微生物としては、今迄にシュードモナス属、ロードトルラ属、クリプトコックス属、キャンデイダ属、トルロブシス属、トレメラ属、オーレオパシディウム属、テイレティオブシス属、エクソパシディウム属等が知られている。本発明者らは、多くの微生物

にわたつて補酵素Q₁₀を生ずる菌を検索した結果、ゲオトリカム(Geotrichum)属に属する微生物が微量の補酵素Q₁₀を生産することを見出し、本発明を完成した。

本発明に使用される微生物は、ゲオトリカム属に属し、かつ補酵素Q₁₀の蓄積生産能を有する微生物ならばどのようなものでもよいが、例として、ゲオトリカム sp. ML-2(微工研菌寄オ4493号)があげられる。

本発明に使用される炭素源は、使用される微生物が利用し得るものなら何でもよいが、例えば糖蜜、グルコース、てんぷん等の糖類、酢酸、プロピオン酸、フマル酸、クエン酸等の有機酸類、エタノール、イソプロパノール等のアルコール類、パーム油、大豆油等の油脂類、あるいは高級脂肪酸等が使用され、この場合単体、混合物の何れでもかまわない。窒素源としては、硫酸、塩安のようなアンモニウム塩、尿素、アミノ酸、あるいはその混合物等が使用され、その他無機塩としてカリウム塩、マグネシウム塩、

リン酸塩、亜鉛塩、鉄塩、マンガン塩、例えば塩化カリ、硫酸マグネシウム、リン酸1カリウム、硫酸亜鉛、硫酸マンガン等が使用される。微量栄養素としては、必要に応じてビタミン類あるいはこれらを含む酵母エキス、糖蜜、コーンステープリカー等を添加してもよい。

培養は通気攪拌液体培養によつて行ない、その場合、バッチ式、連続式培養の何れでもよい。培養温度は20~40℃で行ない得るが、特に25~33℃が望ましく、PHは3.0~7.5で行ない得るが、特に4.0~6.0が望ましい。又、培養の状況によつては適宜消泡剤、例えば大豆油、シリコン系樹脂、脂肪酸誘導体系消泡剤を添加する。

菌体からの補酵素Q₁₀の抽出は、培養液から分離した菌体を、ピロガロールの存在下にメタノール性アルカリでケン化を行ない、ケン化液からヘキサン、クロロホルム等の有機溶剤に転溶させる通常の方法の他に、菌体の水懸濁液を酸、アルカリ処理後、疎水性溶剤で液々抽出する方法(特開昭53-38690)によつても行なわれる。その

後の精製は、シリカゲル、アルミナ、フロリジル等を使用する吸着クロマトグラフィーあるいは薄層クロマトグラフィー、向流分配法等によつて行なわれる。

次に本発明につき、実施例をあげて説明する。

実施例

グルコース40g、リン酸1カリウム4g、硫酸5g、硫酸マグネシウム・7H₂O 0.6g、硫酸亜鉛・7H₂O 10mg、硫酸才1鉄・7H₂O 100mg、酵母エキス1g、水道水1ℓからなる培地(PH5.0に調整)17ℓを30ℓ容ジャーファーマンターに入れ、同一組成の培地に予めプラスチック培養したゲオトリカム sp. ML-2(微工研菌寄オ4493号)の培養液1ℓを接種し、攪拌数700rpm、通気量1v.v.m、温度30℃の条件で通気攪拌培養を行なつた。PHの変動に対しては、アンモニア又は塩酸の添加によつてPH5.0に保つた。15時間の培養後、遠心分離によつて菌体を集め湿菌体2180g

(乾燥重量440g)を得た。菌体を4.5ℓのメタノールに懸濁し、60%苛性ソーダ1120ml、ピロガロール280gを添加してケン化し、ケン化液に水17ℓを加え、その液を等容のn-ヘキサンで3回抽出し、n-ヘキサン層を水洗、脱水後濃縮した。濃縮物を少量のn-ヘキサンの溶解し、冷却によつて析出するステロール類を除去した後、シリカゲルカラムにかけ、n-ヘキサン：エチルエーテル(19：1)で溶出した。補酵素Q₁₀含有画分を合併し、減圧下に乾固した後、少量のエタノールに溶解し、5℃に放置すると橙黄色の結晶112mgが得られた。本結晶は融点、ペーパークロマトグラフィー、UVスペクトル、IRスペクトル、マススペクトルにより補酵素Q₁₀と同定された。

特許出願人 鐘淵化学工業株式会社

代理人 弁理士 浅野 真一